Lane Medical Library

Pathologisches Institut (chem. Abteilung) der Universität Berlin

Nephelometrische Untersuchungen an Stärkehydrosolen.

Ein Beitrag zur Frage der nephelom. Verdünnungsgesetze.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der

Medizinischen Doktorwürde

an der

Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Berlin

vorgelegt von

F. H. Ritter

Pelotas (Brasilien)

Tag der Promotion: ~~3. Februar~~ 16. April 1928

Verlagsbuchhandlung Julius Springer in Berlin

1928

254

Gedruckt mit Genehmigung

der

Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. Grotjahn

Referent: Prof. Dr. P. Rona

Korreferent: Prof. Dr. His

Sonderdruck aus „Biochemische Zeitschrift", Bd. 192, Heft 4/6

I. Einleitung.

Das Bedürfnis der Klinik und der Serologie nach bequemen und schnellen Methoden zur messenden Untersuchung kolloidaler Zustandsänderungen in Serum und Liquor erklärt das wachsende Interesse für Trübungsmessungen an Kolloiden, wie sie nach verschiedenen Methoden unter dem Namen der Nephelometrie, Tyndallometrie, Turbidimetrie u. a. angegeben worden sind. Zweifellos lassen sich mit diesen Methoden bequem und schnell Kurven gewinnen, die das Verhalten der Trübungsintensität kolloidaler Lösungen unter bestimmten Versuchsbedingungen wiedergeben. Dieser relativen Einfachheit der Methodik steht aber die außerordentliche Schwierigkeit der richtigen Deutung solcher Kurven gegenüber.

Bei dem Versuch, ein Stärkehydrosol ganz bestimmter kolloidaler Eigenschaften für Fermentuntersuchungen zu gewinnen, fanden sich bei der Verdünnung solcher Lösungen mit destilliertem Wasser derartige, gut reproduzierbare und streng gesetzmäßig verlaufende nephelometrische Kurven. In dem Bemühen, diese Kurven zu deuten, war zunächst eine Auseinandersetzung mit der Theorie der Trübungsmessung überhaupt und eine Kritik der angewandten Methoden im besonderen notwendig. Das Ergebnis dieser theoretischen Untersuchungen, sowie meine praktischen Erfahrungen bei der nephelometrischen Untersuchung von Stärkehydrosolen seien im folgenden als Beitrag zur Frage der nephelometrischen Verdünnungsgesetze niedergelegt.

II. Experimenteller Teil.

Ein ganz allgemein für nephelometrische Untersuchungen geeignetes Stärkehydrosol muß folgende Eigenschaften haben:

1. Möglichst hoher Trübungsgrad im Verhältnis zur Konzentration.
2. Hohe, möglichst gleichmäßige Dispersität.
3. Hohe Stabilität.
4. Geringe Viskosität.
5. Abwesenheit von störenden Beimengungen.

Als sehr wünschenswert kommt noch hinzu:

6. Einfachheit der Darstellung.

Um ein Ausgangsprodukt zu finden, das möglichst den Anforderungen 1 und 4 entspricht, genügt zunächst die Bereitung eines etwa 1%igen Kleisters aus den Stärken von Kartoffel-, Weizen-, Reis und Arrow-Root. Es wurden die Präparate Amylum purissimum subtil. pulver. von *Riedel* verwendet. Es zeigt sich, daß Kartoffel- und Arrow-Root-Stärke bei sehr geringer Trübung hohe Viskosität aufweisen, also nicht ohne weiteres geeignet sind. Weizenstärke erscheint sehr trübe, aber dem ganzen Aussehen nach nicht so geeignet wie Reisstärke, die eine „durchsichtige", starke Trübung bei relativ niedriger Viskosität gibt. Auch *I. Remesow*, dessen unveröffentlichte Untersuchungen über die Nephelometrie der Stärkelösungen hier besonders erwähnt seien, hatte die Reisstärke am geeignetsten gefunden und seiner Methode zugrunde gelegt. Es beziehen sich also alle unten angeführten experimentellen Ergebnisse ausdrücklich auf Reisstärke, sogenannten „Reisstärkepuder" des Handels. Das verwendete Präparat war das reinste, das im Handel erhältlich ist. Es bestand die Reinheitsproben nach *A. Meyer* mit HCl und NH_3. Um den Dispersitätsgrad zu beurteilen, dienten drei Kriterien:

1. Die Lösung durfte bei schärfster und lang anhaltender Zentrifugierung kein Sediment liefern, 2. bei der Filtration durch dichteste Papierfilter keinen Rückstand hinterlassen und mußte schließlich 3. in Durchsicht und Aufsicht die durch Auftreten des Tyndallphänomens bedingte Zweifarbigkeit, sogenannte Opaleszenz trüber Medien aufweisen.

Die ersten Versuche bezogen sich auf einen einfachen 0,4%igen Kleister, der unter besonderen Vorsichtsmaßregeln gewonnen wurde. Die Stärke wurde zunächst in wenig kaltem Wasser suspendiert, dann in die im Wasserbad befindliche, auf etwa 80^0, also etwa 8^0 oberhalb der Quellungstemperatur erwärmte, gemessene Wassermenge unter dauerndem starken Rühren durch einen Kapillartrichter einlaufen

gelassen. Nach Beendigung dieser Prozedur wurde auf etwa 100° erhitzt und die Lösung noch während einer viertel bis halben Stunde bei dieser Temperatur belassen. Hierauf wurde abgekühlt und die Dispersität nach den oben gegebenen Kriterien geprüft.

Es zeigte sich, daß derartige Lösungen keinerlei Opaleszenz aufwiesen, sondern ausgesprochen weißlich aussahen. Dem entsprach der Befund beim Zentrifugieren und Filtrieren. (Filter von Schleicher & Schüll Nr. 571 und 602 extra hart.) Nach einer halben Stunde scharfen Zentrifugierens setzte sich regelmäßig ein starkes Sediment ab, und die überstehende Lösung erschien vollständig wasserklar. Beim Filtrieren hinterblieb auf dem Filter eine dicke schleimige Kleisterschicht, die das Filter vollständig verstopfte. Diese Lösungen befanden sich also noch in einem Zustande recht geringer Dispersität.

Um den Dispersitätsgrad zu erhöhen, standen zunächst zwei Wege zur Verfügung. Der erste war gegeben durch rein mechanisches langdauerndes Schütteln in der Wärme nach *A. Meyer*, der zweifellos zu Lösungen recht hoher Dispersität führt, aber nicht beschritten wurde, da anzunehmen war, daß die Lösungen von Fall zu Fall dabei zu ungleichmäßig ausfallen würden. Der zweite Weg war der der langdauernden Erhitzung bei gewöhnlichem oder erhöhtem Druck. Es wurde zunächst der Versuch gemacht, mit einer über mehrere Stunden ausgedehnten Erhitzung des nach der oben gegebenen Vorschrift gewonnenen Kleisters auf nur 100° auszukommen. Das Ergebnis dieser Versuche war negativ. Noch nach vierstündiger Erhitzung waren die Eigenschaften der Lösung nur unerheblich von denen des ursprünglichen Kleisters verschieden. Es blieb daher nur die Erhitzung auf Temperaturen über 100°, d. h. die Benutzung eines Autoklaven. Über dieses Verfahren, Stärke in Lösung zu bringen, liegen von den verschiedensten Autoren reichliche Erfahrungen vor, ich verweise in erster Linie auf *Samec* (siehe auch *A. Meyer*, *Malfitano* und *Moschkoff* u. a.). Im Laufe der Versuche stellte sich eine Erhitzungsdauer von 2 Stunden bei 2½ Atm. bei Reisstärke als die geeignetste heraus, Weizenstärke erschien auch nach dieser Zeit bei dieser Temperatur als relativ viel zu grobdispers (siehe die entsprechenden Erfahrungen von *Samec* an Weizenstärke in dieser Zeitschr. 1927). Die so gewonnenen Lösungen verschiedener Konzentrationen, bis zu 3%, gaben beim Zentrifugieren und Filtrieren keinen Rückstand, erreichten in der Opaleszenz die besten Glykogenlösungen, deren besondere Eignung für nephelometrische Zwecke bekannt ist, und waren so beständig, daß bei steriler Aufbewahrung auch nach zwei- bis dreimal 24 Stunden mit bloßem Auge keinerlei Alterungserscheinungen zu erkennen waren.

Die vollständige Methode zur Darstellung von gut nephelometrierbaren Stärkehydrosolen setzt sich also aus drei Abschnitten zusammen:

1. Bereitung eines Kleisters genau nach der oben gegebenen Vorschrift.

2. Erhitzung im Autoklaven bei 2½ Atm. 2 Stunden lang, wobei die Lösungen regelmäßig bis zur weiteren Verarbeitung, die meist am anderen Morgen erfolgte, also etwa 18 Stunden im Autoklaven verblieben. Bakterielle Zersetzungen waren so sicher vermieden.

3. Filtration. Sie hat den Zweck, die Lösungen von nichtlöslichen, tyndallgebenden Teilchen (Staub usw.) zu befreien. Es wurde unter Druck durch drei Doppelblätter der Filter Schleicher & Schüll Nr. 597, 571 und 602 extra hart filtriert.

Von jeder zu untersuchenden Lösung wurde durch Verdünnung eine Eichungsreihe aus sechs Gliedern hergestellt und diese gemessen. Es wurde so vorgegangen, daß Lösungen der Konzentrationen von 3, 2, 1 und 0,5 % so verdünnt wurden, daß die Glieder einer Reihe sich verhielten wie:

100 : 90 : 80 : 70 : 60 : 50. Der Konzentrationsbereich der einzelnen Reihen reichte also von

1.	3 %ige Lösung	. . . . .	3,0	bis	1,5 g	pro	100
2.	2 „	„	2,0	„	1,0 g	„	100
3.	1 „	„	1,0	„	0,5 g	„	100
4.	0,5 „	„	0,5	„	0,25 g	„	100

Hierbei ist zu bemerken, daß die angegebenen Konzentrationen nur grob gelten, da weder bei der Einwage, noch bei der eigentlichen Lösungsprozedur nach streng quantitativen Gesichtspunkten verfahren wurde. Die Bezeichnung „3 %ige Lösung" ist also nur als Gruppenbezeichnung aufzufassen, sie umfaßt Lösungen annähernd gleicher Konzentration.

Zur Verdünnung wurde destilliertes Wasser verwendet, das mehrfach durch dasselbe gehärtete Filter hindurchfiltriert war. Es gelingt bei genügender Geduld, so nach einiger Zeit Wasser zu erhalten, das bei der im *Kleinmann*schen Nephelometer verwendeten Lichtintensität als optisch leer zu betrachten ist.

Über die Technik der Messung selbst ist zu sagen, daß sie streng nach den von *Kleinmann* gegebenen Vorschriften erfolgte. Bei den dünnen, schwer zu messenden Lösungen, ebenso bei den sehr dichten, wurde jede Messung mit zwei bis drei verschiedenen Fensterhöhen der Vergleichslösung vorgenommen. In den nachstehend gegebenen Tabellen der Messungsergebnisse sind alle Fensterhöhen der unbekannten Lösung besserer Übersichtlichkeit halber umgerechnet auf die Höhe 20 der Vergleichslösung. Man findet also je in der ersten Spalte das Verhältnis der Konzentrationen einer Eichungsreihe, wie es durch Verdünnen

Nephelometrische Ergebnisse.

	1	2	3	4	5	6
	Konzentration x	Fensterhöhen der unbekannten Lösung	Konzentration berechnet y	Prozentuale Fehler	Differenzen der prozentualen Fehler	Konstante A
3%ige Lösung Nr. 17	100	20,0	100,0			
	90	20,2	99,0	10,0	10,0	1,00
	80	20,8	96,2	20,2	10,2	1,01
	70	21,8	91,7	31,0	10,8	1,03
	60	23,6	84,7	41,2	10,15	1,02
	50	26,2	76,4	52,8	11,6	1,05
3%ige Lösung Nr. 11	100	20,0	100,0			
	90	20,0	100,0	11,1	11,1	1,11
	80	20,4	98,0	22,5	11,4	1,13
	70	21,25	94,0	34,3	11,8	1,15
	60	22,7	88,2	47,0	12,7	1,18
	50	25,0	80,0	60,0	13,0	1,20
2%ige Lösung Nr. 39	100	20,0	100,0			
	90	20,4	98,2	9,1	9,1	0,91
	80	20,95	95,5	19,4	10,3	0,96
	70	22,2	90,0	28,7	9,3	0,95
	60	24,2	82,6	37,7	9,0	0,94
	50	27,6	72,4	44,8	7,1	0,89
2%ige Lösung Nr. 25	100	20,0	100,0			
	90	20,8	96,4	7,1	7,1	0,71
	80	21,3	93,7	17,2	10,1	0,85
	70	23,0	86,8	24,0	6,8	0,80
	60	25,1	79,6	32,7	8,7	0,81
	50	28,8	69,7	39,4	6,7	0,79
2%ige Lösung Nr. 8	100	20,0	100,0			
	90	20,2	99,1	10,1	10,1	1,01
	80	20,8	96,2	20,2	10,1	1,01
	70	22,2	90,0	28,6	8,4	0,95
	60	24,3	82,4	37,4	8,8	0,93
	50	27,2	73,5	47,0	9,6	0,94
2%ige Lösung Nr. 18	100	20,0	100,0			
	90	21,1	94,7	5,2	5,2	0,52
	80	22,4	89,2	11,5	6,3	0,57
	70	24,2	82,5	17,9	6,4	0,59
	60	27,0	74,0	23,3	5,4	0,58
	50	31,1	64,2	28,4	5,1	0,57
1%ige Lösung Nr. 34	100	20,0	100,0			
	90	21,1	94,7	5,2	5,2	0,52
	80	22,7	88,2	10,3	5,1	0,52
	70	24,8	80,5	15,0	4,7	0,50
	60	27,8	71,9	19,6	4,6	0,49
	50	32,5	61,5	23,0	3,4	0,46
1%ige Lösung Nr. 10	100	20,0	100,0			
	90	21,5	93,0	3,3	3,3	0,33
	80	23,4	85,5	6,8	3,5	0,34
	70	26,1	76,5	9,3	2,5	0,31
	60	29,3	68,25	13,7	4,2	0,34
	50	34,8	57,4	14,8	1,1	0,29

	1	2	3	4	5	6
	Konzentration	Fensterhöhen der unbekannten Lösung	Konzentration berechnet	Prozentuale Fehler	Differenzen der prozentualen Fehler	Konstante A
1%ige Lösung Nr. 6	100	20,0	100,0			
	90	21,4	93,4	3,8	3,8	0,37
	80	23,4	85,5	6,8	3,0	0,34
	70	25,8	77,5	10,7	3,9	0,35
	60	29,4	68,0	13,3	2,6	0,33
	50	34,5	58,0	16,0	2,7	0,32
0,3%ige Lösung Nr. 28	100	20,0	100,0			
	90	22,1	90,5	0,6	0,6	0,05
	80	24,6	81,4	1,8	1,2	0,08
	70	28,1	71,2	1,6	0,2	0,06
	60	32,8	61,0	1,7	0,1	0,04
	50	39,9	50,25	0,5	1,2	0,01
0,5%ige Lösung Nr. 35	100	20,0	100,0			
	90	21,8	91,9	2,1	2,1	0,21
	80	23,8	83,8	4,8	2,7	0,23
	70	26,9	74,4	6,3	1,5	0,21
	60	31,0	64,5	7,5	1,2	0,18
	50	37,0	54,2	8,4	0,9	0,16
0,5%ige Lösung Nr. 20	100	20,0	100,0			
	90	22,4	89,5	0,6	0,6	0,06
	80	24,8	80,5	0,6	0,0	0,03
	70	27,8	72,0	2,9	1,3	0,09
	60	32,3	62,0	3,3	0,4	0,08
	50	38,4	52,2	4,4	1,1	0,08

hergestellt wurde, in der zweiten Spalte die auf Grund von je zehn Ablesungen berechneten Fensterhöhen der unbekannten Lösung bezogen auf die Höhe 20,0 der Vergleichslösung, in der dritten Spalte die Verhältnisse der Konzentrationen, wie sie nach der *Kleinmann*schen Regel der umgekehrten Proportionalität von Fensterhöhen und Konzentrationen zu berechnen waren. Die vierte Spalte gibt den prozentualen Fehler dieser gefundenen Konzentrationen gegenüber den wahren, in der Verdünnungsreihe gegebenen.

Es geht aus den Tabellen ohne weiteres hervor, daß die untersuchten Lösungen in keiner Weise Proportionalität zwischen Trübungsgrad und Konzentration zeigen. Es zeigt sich aber andererseits, daß die Abweichungen von dieser Proportionalität (*Kleinmann*sche Regel) bei den hochkonzentrierten Lösungen am stärksten, bei den dünnen am geringsten sind. Abb. 1 gibt diese Verhältnisse kurvenmäßig wieder an Hand je einer Lösung der untersuchten Konzentration; die gerade Linie gibt die volle Proportionalität.

Einen Schritt weiter führt die Betrachtung der prozentualen Fehler. Wie aus Spalte 5 der Tabelle hervorgeht, sind die Differenzen

zweier aufeinanderfolgender prozentualer Fehler im Bereich der Meßfehler konstant. Die Fehler steigen also mit fallender Konzentration als gerade Linie an (Abb. 2). Ist y der gefundene, in Spalte 3 angeführte

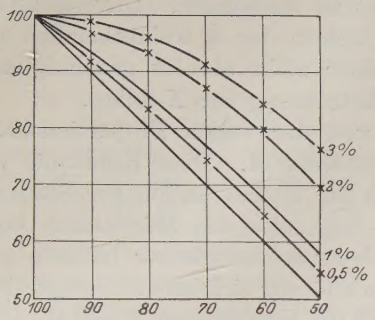

Abb. 1.
Abweichungen von der vollen Proportionalität. Lösung 17, 25, 10, 35.

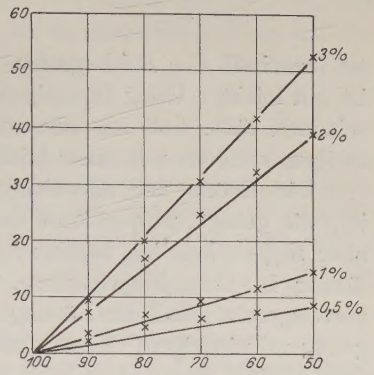

Abb. 2.
Anstieg der prozentualen Fehler. Lösung 17, 25, 10, 35.

und auf Grund der *Kleinmann*schen Regel berechnete Prozentgehalt der untersuchten Lösung, x der theoretische Wert der Spalte 1, so läßt sich auf Grund dieser Tatsache ein Ausdruck für y geben, der Form:

$$y = x + A\left(x - \frac{x^2}{100}\right). \qquad (1)$$

$A\left(x - \frac{x^2}{100}\right)$ ist also der Betrag der Korrektur, die jeweils zu den nach der *Kleinmann*schen Regel berechneten Werten hinzuzuaddieren ist und worin A eine Konstante darstellt.

Eine andere Formel läßt sich gewinnen, wenn man mit y die gemessene Fensterhöhe, mit x wieder den Wert wie oben bezeichnet. Es besteht dann die Beziehung:

$$y = \frac{C}{x} - \frac{(100 - x)^{C \cdot A'}}{100\,x}. \qquad (2)$$

C ist hierin eine Konstante, durch die gewählte Fensterhöhe der Vergleichslösung bestimmt, A' wieder eine Konstante. Die gefundenen Werte liegen jeweils um den Betrag des Korrekturgliedes tiefer, als die bei voller Gültigkeit der *Kleinmann*schen Regel durch $y = C/x$ gegebenen Hyperbelpunkte.

Die Größe der Korrektur ist in Gleichung (1) direkt proportional der Größe der Konstanten A. Diese ist der Berechnung gemäß nichts anderes, als die Tangente des Winkels zwischen X-Achse und der Ge-

raden, die durch die prozentualen Fehler bestimmt ist, gibt also das Ansteigen der prozentualen Fehler. In Spalte 6 finden sich die Werte für A aus der Gleichung (1) berechnet nach $A = \frac{y - x}{x - \frac{x^2}{100}}$. Die Konstanz ist innerhalb der Fehlergrenze als gut zu bezeichnen. Unverkennbar ist ein leichter Gang in einigen der Reihen, der es wahrscheinlich erscheinen läßt, daß die relativen Fehler nicht absolut gradlinig ansteigen, sondern mit einer leichten Krümmung zur X-Achse.

Die Größe der Abweichungen von der vollen Proportionalität ist, wie gesagt, proportional der Konstanten A. Diese Konstante ist aber augenscheinlich bestimmt durch die Konzentration der Stammlösung in Gewichtsprozenten. Es liegt also die Möglichkeit vor, vorausgesetzt, daß die Lösungen noch nephelometrierbar bleiben, bei genügend niedrigem Gehalt einer Stammlösung sich eine Eichungsreihe darzustellen, deren A so klein ist, daß die Korrekturen innerhalb der Fehlergrenze bleiben. Solche Lösungen werden scheinbar volle Proportionalität zeigen. Die 0,3%ige Lösung Nr. 28 ist dafür ein gutes Beispiel, allerdings lassen sich so schwache Stärkelösungen nur noch durch geübtere Untersucher in genügender Genauigkeit messen.

Um zu prüfen, ob die prozentualen Fehler auch in weiteren Bereichen als dem durch die höchste gemessene Konzentrationsdifferenz von 1,5 g gegebenen als gerade Linie ansteigen, ob mit anderen Worten die abgeleitete Formel auch hier noch Gültigkeit besitzt, müssen wir sämtliche Kurven auf den gleichen Maßstab bringen, d. h. statt Volumprozenten Gewichtsprozente als Abszissen auftragen. Man sieht, daß tatsächlich bis zu einem Konzentrationsbereich von 3,0 bis 0,5 g die berechneten Tangenten (A in Spalte 6) sich ungefähr verhalten, wie die Konzentrationen der Stammlösungen. Bei den noch dünneren Lösungen ist die Tangente allerdings kleiner als zu erwarten wäre. Dieser letztere Befund entspricht augenscheinlich dem oft erkennbaren Gang der Konstanten innerhalb einer Eichungsreihe, d. h. die ursprünglich gerade Linie neigt sich allmählich der X-Achse zu.

Überschauen wir die nephelometrische Literatur, so finden wir „Verdünnungsgesetze" wie das oben gegebene, vor allem bei *Kober*. Seine Formel $y = \frac{C}{x} - \frac{(1 - x)\,C \,.\, k}{x^2}$, die für eine Reihe verschiedener Substanzen bei Messung in seinem Nephelometer gilt, zeigt mit Formel (2) eine ausgesprochene Verwandtschaft. Ferner finden wir ein interessantes Analogon dazu in den allerdings mathematisch nicht weiter formulierten Untersuchungen von *Kabelik* und Schülern bei der Verdünnung von normalen und pathologischen Sera. Alle diese Befunde stehen im Gegensatz zu der bei der Verdünnung anderer Trübungen gefundenen

*Kleinmann*schen Regel, die sagt, daß Schichtdicken und Konzentration einander umgekehrt proportional sind. Um einen sicheren Boden in der Beurteilung dieser Verhältnisse zu gewinnen, d. h. die Berechtigung der *Kleinmann*schen Regel einerseits, die Ursachen der Abweichungen andererseits zu prüfen, ist es unerläßlich, kurz auf die Theorie der Nephelometrie näher einzugehen.

III. Theoretischer Teil.

Es braucht nicht besonders darauf hingewiesen zu werden, daß die Optik trüber Medien eins der verwickeltsten Kapitel der theoretischen Physik darstellt. Ein möglichst universeller, viele Variablen umfassender Ausdruck für die Intensität des Tyndallichts als Funktion eben dieser Variablen, wie er vor allem von *Mie* mit Erfolg angestrebt worden ist, muß außerordentlich kompliziert, unhandlich und unübersichtlich werden. Einfachere Formeln lassen sich nur ableiten auf Grund sehr enger Voraussetzungen, die den Bereich ihrer Gültigkeit stark einschränken. Es ist von besonderer Bedeutung, daß das beim Studium des Trübungsproblems immer wieder zitierte *Rayleigh*sche Gesetz, obgleich zur Erklärung eines speziellen Phänomens abgeleitet, in seinen Voraussetzungen in glücklicher Weise auf nichtmetallische kolloide Lösungen paßt. Sehr zu beachten ist aber noch die wesentliche Einschränkung bezüglich des Dispersitätsgrades, der sich nur über Teilchengrößen bis 200 $\mu\mu$ erstrecken darf.

Es sei hier an den Rayleighausdruck in seiner einfachsten Form erinnert:

$$J = J_0 \cdot k \cdot \frac{(n' - n)^2}{n^2} \cdot \frac{R^6}{\lambda^4} N.$$

J_0 = Intensität des einfallenden Lichtes;
n' und n = Brechungsindizes der dispersen Phase bzw. des Dispersionsmittels;
R = Teilchenradius;
N = Teilchenanzahl.

Oder bei Einführung der Konzentration C, da $C = N \cdot R^3 \cdot s$

$$J = J_0 \cdot \frac{k}{s} \cdot \frac{(n' - n)^2}{n^2} \cdot \frac{R^3}{\lambda^4} \cdot C.$$

Die Gleichungen von *Mie* enthalten die Rayleighvoraussetzungen als speziellen Fall. Es ist bedauerlich, daß sie nur im Hinblick auf Metallsole genau durchgerechnet worden sind. Wichtig erscheint für diese Untersuchung, daß in jedem Falle das Tyndallicht direkt proportional ist der Teilchenzahl bzw. der Konzentration, allerdings bei Beschränkung auf optisch unendlich verdünnte Systeme, wie sie in Lösungen aber gegeben sind.

Die experimentellen Prüfungen des *Rayleigh*schen Gesetzes bzw. der *Mie*schen Gleichungen sind, besonders in bezug auf praktisch sehr bedeutungsvolle Abhängigkeiten noch ziemlich spärlich. Die Ergebnisse der Untersuchungen über Abhängigkeit von Tyndallicht und Teilchengröße einerseits, Tyndallicht und Konzentration andererseits, seien nachfolgend kurz zusammengestellt. Auf die relativ zahlreicheren Untersuchungen an metallischen Kolloiden sei dabei in Hinblick auf den Gegenstand dieser Arbeit keine besondere Rücksicht genommen.

1. Tyndallicht und Teilchengröße. Es seien hier die Untersuchungen von *Mecklenburg* an *Odén*schen Schwefelsolen genannt, ferner die von *Tolman* an Rauchen und gröberen Kieselsäuresolen. *Mecklenburg* fand Steigen der Intensität entsprechend dem Rayleighgesetz in einem Bereich bis etwa 50 $\mu\mu$, dann stieg die Kurve etwas langsamer bis etwa 100 $\mu\mu$, um bei noch größeren Teilchen (bis 840 $\mu\mu$) fast horizontal zu verlaufen. Die *Tolman*schen Untersuchungen schließen bezüglich der Dispersität der verwandten Sole direkt an die *Mecklenburg*schen an. Er fand mit seiner Apparatur eine hinreichend gute Proportionalität des Tyndallichts mit R^2 in einem Gebiet von etwa 20600 bis etwa 2240 $\mu\mu$. Von dieser Teilchengröße an bis zu der kleinsten von ihm untersuchten von 997 $\mu\mu$ fand er ein Übergangsgebiet, das weder R^3 noch R^2 folgte. Fassen wir die experimentellen Befunde der beiden Autoren zusammen, so finden wir, daß bei konstanter Konzentration die Kurve der Trübungsintensität ein Maximum durchläuft. Dieser Befund entspricht der Theorie, da bei konstanter Konzentration nach *Mie* bis 100 $\mu\mu$ die Strahlung proportional ist mit R^3, entsprechend dem *Rayleigh*schen Gesetz, dann nur noch langsam steigt und schließlich ein Maximum erreicht, dessen Lage von der Wellenlänge des angewandten Lichtes abhängt. Diese Kurve, die, wie schon gesagt, für nichtmetallische Kolloide auf Grund der Gleichungen von *Mie* noch nicht durchgerechnet worden ist, hat deshalb eine besondere Bedeutung, weil sie den Verlauf der Trübungsintensität bei der Ausflockung oder bei der Peptisierung eines Systems gibt.

2. Tyndallicht und Konzentration. Diese Abhängigkeit hat eine besondere Bedeutung für die Nephelometrie. Versuche zu exakter Prüfung der Theorie in diesem Punkte finden sich wieder bei *Mecklenburg* und *Tolman*. *Mecklenburg* prüfte in seinem Tyndallmeter die Konstanz für J/C an einer Zinnsäurelösung, später an Glykogen und fand sie, allerdings mit einer Fehlerbreite von $\pm$ 9% bestätigt. *Tolman* arbeitet mit Kieselsäuresolen und mit Salmiaknebeln. Trägt er die Helligkeiten als Ordinaten auf, die Konzentrationen in g/Liter als Abszissen, so findet er in einem weiten Konzentrationsbereich volle Proportionalität zwischen Lichtintensität und Konzentration. Abweichungen davon bei sehr hohen Konzentrationen konnte er auf Unvollkommenheit seiner Apparatur zurückführen.

Über die Methoden der Messung des Tyndallichts, die zu den genannten Ergebnissen geführt haben, ist hier einiges zu sagen. Wenn auch die Versuchsanordnungen der verschiedenen Untersucher zum Teil erheblich voneinander abweichen, so sind sie doch immer an gewisse Grundprinzipien gebunden, auf deren Darstellung hier nicht weiter eingegangen werden kann. Da die Strahlung eines Teilchens nicht isoliert gemessen werden kann, sondern immer nur die eines in Konfiguration und Ausmaßen verschieden gewählten, mit vielen strahlenden Teilchen erfüllten Raumteiles, so ist es ohne weiteres ersichtlich, daß alle Messungen eine Kombination von Absorptions- und Strahlungsmessung darstellen (wobei hier zwischen diffuser Absorption trüber Medien und echter Absorption unterschieden sei). Im allgemeinen wird versucht, durch besondere Anordnung den Einfluß der diffusen Absorption so gering zu gestalten, daß er vernachlässigt werden kann und eine reine Strahlungsmessung resultiert. Ein anderer Weg bietet sich in der rechnerischen Behandlung eines Falles, in welchem der Einfluß der Absorption zwar groß, aber theoretisch leicht zu erfassen ist. Auf diese Weise ist einerseits in Hinblick auf das Kobernephelometer von *P. V. Wells*, andererseits in Hinblick auf das *Kleinmann*sche Nephelometer von *Lednicky*

eine spezielle Nephelometergleichung abgeleitet worden, die hier wiedergegeben sei.

$$J = J_0 \cdot \frac{k}{\alpha} (1 - e^{-\alpha x}).$$

k = Koeffizient der Strahlung,
α = Koeffizient der diffusen Absorption,
x = Schichtdicke.
e = Basis der natürlichen Logarithmen.

Das Wesen der praktischen Nephelometrie im Gegensatz zu dem genannten Messungsverfahren beruht in der Anwendung des kolorimetrischen Prinzips auf die Trübungsmessung. Betrachtet man die obengenannte Nephelometergleichung, die auf jeder Seite des Apparats gilt, so sieht man unmittelbar, daß, wenn J_0 und k/α auf beiden Seiten gleich sind, eine Beziehung zwischen Absorptionskoeffizient (hier diffuse Absorption) und Schichtdicken gegeben ist, die der in der Kolorimetrie bekannten vollkommen entspricht. Da nach der Theorie der Koeffizient der diffusen Absorption, wenn das System keine echte Absorption zeigt, direkt proportional der Konzentration sein muß, besteht also auch eine einfache Beziehung zwischen Konzentration und Schichtdicken. Diese Beziehung ließ sich bekanntlich durch *Kleinmann* bei Verwendung seiner Apparatur an einer großen Reihe von Lösungen ausgezeichnet bestätigen. Es ist weiter ersichtlich, daß die Grundgleichung der Nephelometrie sich in ihrer Form durch besondere Eigentümlichkeit der angewandten Apparatur mehr oder weniger ändern kann, daß aber immer wieder die *Kleinmann*sche Regel sich bestätigen lassen muß, wenn alle Faktoren außer α und x auf beiden Seiten gleich und konstant sind. Diese Forderung läßt sich aber nur unter bestimmten Bedingungen voll verwirklichen. Ich verweise hier auf die besondere Untersuchung der Fehlerquellen der *Kleinmann*schen Apparatur in der Originalpublikation von *Kleinmann* und auf die ausgezeichnete Darstellung von *Lednicky*. Es darf also der Geltungsbereich der *Kleinmann*schen Regel auch bei Prüfung mit der *Kleinmann*schen Apparatur schon aus rein optischen Gründen nicht a priori auf Lösungen aller Art ausgedehnt werden. Es erscheint überhaupt notwendig, in diesem Zusammenhang darauf hinzuweisen, daß das *Kleinmann*sche Instrument für einen ganz bestimmten, scharf umrissenen Zweck konstruiert worden ist, nämlich zur quantitativen Bestimmung genau bekannter, unter strengsten Vorschriften stets in gleicher kolloider (suspensoider) Form gewonnener Fällungen. Außerhalb seines Aufgabenkreises dürfen augenscheinlich alle Resultate, die mit dem Instrument gewonnen werden, nur mit Vorsicht und auf Sachkenntnis beruhender Kritik bewertet werden. Besonders die Aufnahme von Kurven über den Verlauf der Trübungsintensität unter bestimmten Versuchsbedingungen gehört in den Bereich eines anderen, in gleicher Handlichkeit und Einfachheit noch nicht vorhandenen Instruments zur absoluten Messung von Trübungsintensitäten [1]. Wie man Absorptionskoeffizienten nicht mit dem Kolorimeter, sondern mit dem Spektrophotometer messen wird, so auch nicht die Koeffizienten der diffusen Absorption bzw. der diffusen Strahlung mit dem Nephelometer, sondern mit einem besonderen Instrument.

Abweichungen von der *Kleinmann*schen Regel können also rein optische Ursache haben und müssen in erster Linie daraufhin untersucht werden.

[1] Laut persönlicher Mitteilung will *Kleinmann* der Konstruktion eines solchen nähertreten.

Ferner können ihnen aber augenscheinlich Veränderungen des Substrats zugrunde liegen.

Betrachten wir diejenigen Eigenschaften eines nephelometrisch untersuchten Systems, die praktisch in erster Linie ein Befolgen oder Nichtbefolgen der *Kleinmann*schen Regel bedingen, so sehen wir, daß es sich um Änderungen der Teilchengröße und der Hydratation handeln muß. Ändern sich diese beiden Eigenschaften, so muß bei konstanter Konzentration und stabiler Vergleichslösung das gemessene Verhältnis der Koeffizienten der diffusen Absorption gegen das Verhältnis der Konzentrationen notwendigerweise einen Gang aufweisen.

$$\frac{C_1}{C_2} \gtrless \frac{\alpha_2}{\alpha_1}.$$

Dieser Gang ist für den Fall der Teilchenvergrößerung eindeutig bestimmt durch die Kurve der Lichtintensität bei zunehmendem R. Im Falle der Hydratationsänderung kann nur gesagt werden, daß einer Zunahme der Hydratation eine Abnahme, einem Sinken dagegen eine Zunahme des Verhältnisses α_2/α_1 entsprechen muß.

Es erhebt sich zum Schluß die Frage, inwiefern ein Abweichen von der *Kleinmann*schen Regel etwa noch auf eine Verschiebung des Verhältnisses k/α zurückzuführen sein kann. Fehlt jede echte Absorption, so muß dieses Verhältnis bei allen einfachen Zustandsänderungen und bei allen Konzentrationen konstant bleiben. Anders, wenn eine echte Absorption des Systems vorhanden ist. In diesem Falle ist die Tatsache entscheidend, ob die Absorption dem *Beer*schen Gesetz folgt oder nicht. Als rein subjektiver Fehler kommt bei Verwendung weißen Lichtes hinzu, daß durch ungleiche Färbung der Vergleichsfelder die Einstellungen außerordentlich unsicher werden.

Es geht aus diesem kurzen Überblick über die Grundlagen der Nephelometrie hervor, daß die *Kleinmann*sche Regel vollständig gültig sein muß und daß jede Abweichung davon ihre Ursachen hat, einmal in den optischen Fehlerquellen der Messung, ein anderes Mal in Veränderungen des Substrats. *Kober*sche Verdünnungsgesetze, *Kabelik*sche Serumkurven und das hier dargestellte Verhalten von Stärkehydrosolen finden also ihre Erklärung in dem Wirken eines dieser beiden Faktoren oder beider gleichzeitig. Erst wenn der optische Fehler sicher als gering vernachlässigt werden kann, erscheinen quantitative Untersuchungen kolloidaler Zustandsänderungen an Hand der Abweichung von der *Kleinmann*schen Regel als erlaubt.

Über die Bedeutung der beiden Faktoren beim Zustandekommen der *Kober*schen Formel liegen experimentelle Untersuchungen von *Wells* vor. *Wells* prüfte zunächst durch Ansetzen eines Photometers an den *Kober*schen Apparat die Gültigkeit der theoretisch zu fordernden Formel $J = J_0 \frac{k}{\alpha} (1 - e^{-\alpha x})$. Er konnte sie nicht verifizieren, was in erster Linie, wie er zeigen konnte, auf Änderungen in der Beleuchtungsstärke der einzelnen Flächenelemente bei verschieden hoher Einstellung der Flüssigkeitssäulen zurückzuführen war, also auf eine technische

Unvollkommenheit. *Wells* konnte aber weiter zeigen, daß mit größter Wahrscheinlichkeit auch Veränderungen des Substrats eine große Rolle spielten, und zwar bediente er sich hier der parallelen Untersuchung seiner Lösung auf nephelometrischem und auf spektrophotometrischem Wege. Er fand die Abweichungen von der vollen Proportionalität in beiden Fällen gleichsinnig und dem Betrage nach ähnlich.

Es liegt nahe, ähnliche Untersuchungen vorzunehmen zur Aufklärung der an Stärkelösungen und auch der von *Kabelik* an Serum beobachteten Verdünnungsgesetze. Photometrische Untersuchungen über die Gleichung des *Kleinmann*schen Nephelometers liegen nicht vor, und es mußte aus technischen Gründen zunächst auf deren Durchführung verzichtet werden. Dagegen konnte die vergleichende Absorptionsmessung durchgeführt werden. Da für diesen Zweck lediglich ein einfaches *König*sches Spektrophotometer zur Verfügung stand, das nicht ohne weiteres für eine Untersuchung trüber Medien geeignet war, sei hier auf eine Wiedergabe der zahlreichen aufgenommenen Kurven verzichtet und nur in Analogie zu *Wells* mitgeteilt, daß der allgemeine Gang der Abweichungen der gleiche war wie bei der Nephelometrie, nur mit dem Unterschied, daß, mit dem Spektrophotometer gemessen, die Abweichungen von der *Kleinmann*schen Regel ganz außerordentlich viel größer waren. Ohne einer mit geeigneteren Mitteln vorzunehmenden, mehr kolloidchemisch orientierten Untersuchung vorgreifen zu wollen, sei hier doch der Schluß gezogen, daß es sich bei Stärkehydrosolen tatsächlich überwiegend um eine Zunahme in der Strahlung des untersuchten Systems handelt, die auf Zustandsänderungen des Substrats beruht und in einer auffallend einfachen gesetzmäßigen Beziehung zur Verdünnung steht.

Es ist mir ein besonderes Bedürfnis, an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. *P. Rona* zu danken, der mir die Anregung zu dieser Arbeit gab und mir bei deren Durchführung ein stets hilfsbereiter und verständnisvoller Führer war. Herrn Dr. *Zocher* vom Kaiser Wilhelm-Institut für physikalische Chemie und Elektrochemie verdanke ich wertvolle Ratschläge bei der Abfassung des theoretischen Teiles dieser Untersuchung.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine Darstellungsmethode für Stärkehydrosole hoher Dispersität zu nephelometrischen Zwecken gegeben.

2. An Hand einer Betrachtung über die theoretischen und experimentellen Grundlagen der Nephelometrie wird gezeigt, daß die *Kleinmann*sche Regel zu Recht besteht. Abweichungen von ihr müssen zwei Ursachen haben: 1. Die optischen Voraussetzungen der zur Messung benutzten Versuchsanordnung sind nicht genügend berücksichtigt (Unvollkommenheit der Nephelometer, Anwendung zu stark ab-

sorbierender Lösungen und anderem). 2. Das Substrat ändert sich bei der Verdünnung.

3. Die Abweichungen der untersuchten Stärkelösungen von der *Kleinmann*schen Regel folgen einem mathematisch streng formulierbaren Gesetz, das in Analogie steht zu den sogenannten nephelometrischen Verdünnungsgesetzen von *Kober* und den von *Kabelik* an normalen und pathologischen Sera gefundenen Verdünnungskurven.

4. Der Vergleich mit der Absorptionsmessung spricht dafür, daß bei den untersuchten Stärkehydrosolen die Abweichungen von der *Kleinmann*schen Regel bedingt sind durch Teilchenveränderung bei der Verdünnung. Diese Veränderungen, deren Natur aufzuklären einer weiteren speziellen Untersuchung vorbehalten bleibt, stehen in einer auffallend einfachen Beziehung zur Verdünnung.

Literatur.

a) Stärke.

M. Samec, Kolloidchemie der Stärke 1927. — *H. Pringsheim*, Polysaccharide 1923. — *P. Karrer*, Die polymeren Kohlehydrate 1925. — *Malfitano* und *Moschkoff*, C. r. **150** und **151**. — *A. Meyer*, Untersuchungen über die Stärkekörner 1895.

b) Allgemeine Nephelometrie.

Lord Rayleigh, Phil. Mag. **47**, 379, 1899. — *G. Mie*, Beiträge zur Optik trüber Medien. Ann. d. Phys. **25**, 1908. — *P. V. Wells*, A simple theory of the nephelometer. Journ. Amer. Chem. Soc. 1922. — *Lednicky*, Allgemeine Nephelometrie. Kolloid. Zeitschr. **32**, 1922. — *Isnardi (Gans)*, Experimentaluntersuchungen an trüben Medien. Ann. d. Phys. **62**, 1920. — *Wo. Ostwald*, Licht und Farbe in Kolloiden 1914. — *v. Angerer*, Arch. f. Hyg. **93**, 1923.

c) Spezielle Nephelometrie.

Kober, Technical applications of nephelometry. Journ. of Ind. Eng. 1918. — *Derselbe*, A method usw. Journ. of biol. Chem. **13**, 1913. — *Richard* u. *Wells*, Estimation of opalescent usw. Amer. Chem. Journ. 1906. — *Derselbe*, A method usw. Ebendaselbst 1904. — *Bloor*, Method for determinating usw. Journ. of biol. Chem. 1914/15. — *Tolman* u. a, Tyndallmeter for the examination of disperse systems. Relation between intensity of Tyndall-beam and concentration of suspensions and smokes, Relation between Tyndall-beam and size of particles. Disappearance of smoke in a confined space. Journ. Amer. Chem. Soc. **41**, 1919. — *Mecklenburg* bzw. *Mecklenburg* und *Valentiner*, Beschreibung des Tyndallmeters. ZS. f. Instrumentenkde. 1914. — *Dieselben*, Messung des Tyndalleffekts in kolloider Lösung. Kolloid-Zeitschr. 1914. — *Dieselben*, Tyndallometrie im einfarbigen Licht. Kolloid-Zeitschr. 1914. — *Dieselben*, Tyndalleffekt und Teilchengröße. Ebendaselbst 1915. — *Kangro* und *Le Blanc*, Tyndallphänomen in Flüssigkeiten. Zeitschr. f. phys. Chem. **87**, 1914. — *Kabelik*, Nephelometrie des Serums. Kolloid-Zeitschr. **37**. — *H. Kleinmann*, diese Zeitschr. **99**, **137**, **144**; Kolloid-Zeitschr. **27**, **36**.

Lebenslauf

Am 12. August 1899 wurde ich in Pelotas im Staate Rio Grande do Sul (Süd-Brasilien) geboren. Mein Vater, Friedrich J. Ritter, ebenfalls schon in Brasilien geboren, war rein deutscher Abstammung und Muttersprache. Bis zu meinem 12. Lebensjahre wurde ich in Pelotas privat unterrichtet und kam dann nach Porto Alegre, wo ich 3 Jahre lang, bis zur obersten Klasse, die Deutsche Hilfsvereinsschule besuchte. 1914, nach dem Tode meines Vaters, Übersiedelung nach Deutschland. Hier besuchte ich von 1914 bis 1917 die Bismarckschule in Hannover, die ich aus Gesundheitsrücksichten schon mit der Oberprima-Reife verließ. Nach Kriegsende Reise nach Brasilien, von wo ich erst nach einem Jahre zurückkehrte und 1921 am Realgymnasium in Mannheim die Reifeprüfung als Extraneus bestand. Von 1921 bis 1926 studierte ich in Freiburg i. Br., wo ich auch 1926 mein medizinisches Staatsexamen ablegte.